

七星瓢虫卵子发生的观察

任淑仙 李燕婷 徐筠

(北京大学生物系)

摘要 对七星瓢虫 (*Coccinella septempunctata* L.) 卵子发生过程进行了组织学、细胞学观察及阶段划分,并与取食人工饲料的瓢虫进行对比。卵母细胞仅出现在幼虫期。蛹期已分化为卵母细胞与营养细胞。成虫期卵子发生可以明显的分为卵母细胞分化、卵母细胞营养及卵母细胞卵黄形成三个时期,并分为9个阶段。第1阶段:卵母细胞位于卵原区,进行第一次减数分裂的前期。第2阶段:卵母细胞位于颈区,开始增大,出现了营养索, DNA 呈明显的孚尔根正反应。第3阶段:卵母细胞形成卵泡囊并进入生长区,核增大成胚泡。第4阶段:胚泡移至卵质周缘,卵质中 RNA 丰富,滤泡细胞立方形。第5阶段:胚泡内核仁增大、分枝并释放核仁小体进入卵质。第6阶段:营养索消失,滤泡细胞扁平并出现空位,卵黄形成开始。第7阶段:卵黄球形成逐渐充满卵质,胚泡膜逐渐消失。第8阶段:胚泡消失,滤泡细胞开始分泌卵壳。第9阶段:卵发育完成,经过上皮塞进入输卵管。取食人工饲料瓢虫的卵子发生过程显著缓慢,发育中的卵母细胞数量少,滤泡细胞及卵黄分布均不正常。

七星瓢虫的卵巢结构属于端滋型。对于端滋型卵巢的研究有 Bonhag (1955, a, b) 对乳草蛾 (*Onceptilius fasciatus*), Bielanska (1960) 对象鼻虫 (*Phyllobius* sp.) 及金花虫 (*Agelastica* sp.) 等, Ullmann (1973) 对黄粉虫 (*Tenebrio molitor*) 进行了较多的工作。对七星瓢虫的卵巢结构及卵子发生则很少报道。近几年来,随着生物防治的发展,应用七星瓢虫防治棉田苗期蚜虫已在我国部分棉区推广应用。因此,以人工饲料取代天然食物来大量繁殖七星瓢虫是当前急待解决的课题。为此,我们对七星瓢虫的卵子发生过程进行了细胞学及细胞化学观察,并进行了阶段划分,以期为研究七星瓢虫的人工饲料提供基础资料。

材料与方法

实验用虫系室内饲养的七星瓢虫。在 23—24℃、相对湿度 60—70%, 16 小时光照条件下饲养。幼虫在直径 15 厘米大培养皿内集体饲养,皿内放大量折叠纸条加以阻隔以减少残杀。幼虫喂麦蚜或菜蚜。新羽化的成虫在果酱瓶中饲养,每瓶一对,分两组喂食。一组喂麦蚜或菜蚜,另一组喂蛋清人工饲料(鲜鸡蛋清、蜂蜜、蔗糖及啤酒酵母分别按 5:1:1:0.5 重量比配制)。

各虫态按日龄逐日在生理盐水中解剖,直至卵形成为止。以 Bouin 及 Carnoy 氏剂固定,铁矾苏木精染色。核酸反应以孚尔根 (Feulgen) (Barg 及 Delamater, 1948) 和甲基绿-焦宁 Y 法 (Kurnich, 1955) 进行。蛋白质反应以汞化溴酚蓝法 (Bonhag, 1955) 进行。

本文 1979 年 3 月收到。

本文承张宗炳教授审阅修改,特此致谢。

观察与结果

(一) 卵巢的组织结构 七星瓢虫幼虫的卵巢位于腹部第 4 节的消化道两侧，呈肾形，包在脂肪体中。在 4 龄幼虫卵巢的切片中可以看到 5—7 个整齐排列的卵巢管。每个卵巢管分为端部、中部及基部三部分（图版 I:1）。端部向外侧呈放射状排列。由扁平上皮细胞组成，中部由圆形体积较大的卵原细胞组成。在幼虫末期及预蛹期可以看到卵原细胞旺盛的有丝分裂相。基部由柱状上皮细胞沿管壁四周排列，中央形成空腔，每个卵巢管外均有上皮鞘包围。

蛹期卵巢逐渐变成圆形，卵巢管已延长。端部转向前方，端部细胞向前延伸与上皮鞘一起形成端丝（图版 I:2）。蛹期中部经过预蛹期卵原细胞的有丝分裂，细胞数量增多形成卵原区。卵原区内已分化为营养细胞与卵母细胞。营养细胞位于前端，卵母细胞位于后端。基部亦明显延长，其顶端的上皮细胞增生密集。

成虫期卵巢呈菊花状，由 50—60 条卵小管组成，卵管末端与输卵管相连。新羽化成虫的卵小管仅有端丝，卵原区与卵管基部三部分。成虫取食后，卵母细胞开始发育。随着卵母细胞的生长，卵管基部前端的上皮细胞形成颈区与生长区，后端形成卵管柄，开始发育后成虫卵巢管的结构如图 1。

(二) 卵子发生的阶段划分 成虫期卵巢管的发育及卵子形成，根据我们的观察可以分为 3 个时期 9 个阶段。划分阶段的主要依据是：（1）卵母细胞体积的变化，核内染色质及核酸的改变，细胞内营养物质及卵黄的形成与积累。（2）营养细胞的染色质及核酸的变化。（3）滤泡细胞的形态改变。根据这些变化、卵巢管及卵子发生不仅在形态上有不同，而且也可以看到早期卵母细胞进行第一次减数分裂的细胞学变化。这就是卵母细胞的分化期。以后卵母细胞开始积累营养物质，细胞体积缓慢增加。营养物质的来源主要是由营养细胞通过营养索提供。这就是卵母细胞的营养期。继之营养索消失，营养物质由血淋巴提供，卵黄物质开始形成与积累，细胞体积增加迅速，这就是卵母细胞的卵黄形成期。卵子发生的阶段划分如下：

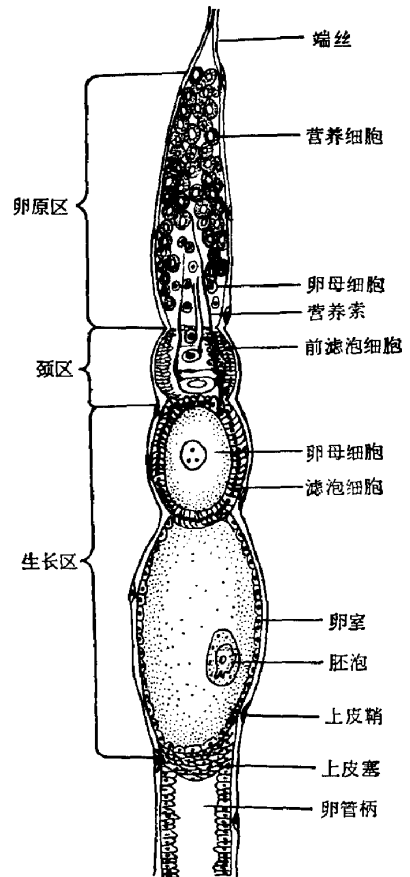


图 1 成虫卵巢管的结构

1. 卵母细胞的分化期：由蛹期开始至成虫羽化后一天内，卵原区的细胞已分化为营养细胞与卵母细胞。卵母细胞进行着第一次减数分裂，细胞体积没有变化。

(1) 第 1 阶段: 在新羽化成虫期的卵管中, 营养细胞位于卵原区前端 $2/3-4/5$ 处, 细胞排列紧密、界线不清(图版 1:3), 细胞核圆形, 几乎充满整个细胞。核内染色质颗粒均匀密集。细胞质苏木精染色较深, 表现嗜碱性。

卵母细胞位于卵原区后端 $1/3-1/5$ 处, 比营养细胞小, 排列稀疏(图版 1:3)。细胞质非嗜碱性, 呈透明状。核内染色质处于减数分裂前期的各种形态。可分为 a. 细线期: 卵母细胞核内染色质呈细线状, 盘曲成团, 充满核内。核仁不出现, 核膜清楚。苏木精染色细胞质着色极浅。b. 偶线期: 核内染色质盘曲渐趋松散, 但仍呈线状充满核内。核仁开始呈现, 嗜碱性。核膜清楚。c. 粗线期: 核内染色质已浓缩成一定数量的粗线体分散在核内。d. 双线期: 染色质比粗线期变细, 呈“十”字形, “8”字形, “人”字形等, 核仁清楚。e. 终变期: 染色质呈块状, 断续的分布在核膜内缘, 核仁清楚。

卵母细胞经过上述第一次减数分裂前期的各时期以后, 核内染色质再度聚集成团块状, 核膜最后消失, 细胞体积明显变小, 细胞质仍呈透明状。

2. 卵母细胞营养期: 营养细胞体积明显增大, 积极地合成营养物质并通过营养索不断地向卵母细胞提供营养。卵母细胞离开卵原区进入生长区, 并由于营养物质的增多体积逐渐增大。这一过程在正常情况下需要 3—4 天。

(2) 第 2 阶段: 成虫发育后的卵管内, 在卵原区与生长区之间有许多密集排列的扁平上皮细胞即前滤泡细胞。它们具有椭圆形细胞核, 细胞界线不清, 具有很强的分生能力, 并组成颈区。卵母细胞由卵原区基部进入颈区, 被前滤泡细胞包围而进入第 2 阶段(图版 1:4)。卵母细胞随即开始增加体积, 由第 1 阶段的 $5.1-8.1$ 微米增加到 $15-20$ 微米。由于核液的增多, 细胞核形成胚泡。核内染色质逐渐分散, 用孚尔根法染色呈明显的 DNA 正反应。细胞质用苏木精染色呈弱碱性。用甲基绿-焦宁 Y 法染色呈 RNA 正反应。通常在颈区可以看到 2—3 个发育中的卵母细胞。颈区卵母细胞常呈扁圆形, 横列状(图版 1:4)。

营养细胞亦同时增加体积, 核内染色质呈网状分布, 并常常连成染色质小块, 细胞质嗜碱性。在卵原区后端出现源于营养细胞的营养物质形成的营养索, 并延伸到卵母细胞供给营养。在营养期中每个卵母细胞具有一个营养索。

(3) 第 3 阶段: 卵母细胞在颈区生长到一定大小后, 外围被单层柱状滤泡细胞包围形成卵泡囊, 并离开颈区进入生长区前端(图版 1:4)。这时卵母细胞迅速增大, 直径达 $100-120$ 微米, 呈球形。胚泡体积也迅速增加, 亦呈球形位于细胞中央。核内染色质进一步分散, 孚尔根反应模糊, 但核仁清楚。卵质中嗜碱性及嗜焦宁性均较前一阶段增强且呈梯度分布。越靠近营养索的一端卵质的嗜碱性越强, 反应出 RNA 含量的不断增多。

(4) 第 4 阶段: 卵母细胞进一步增大呈椭圆形, 约 $180-210 \times 195-240$ 微米。胚泡亦变成椭圆形, 由中央开始移向卵质周缘(图版 1:5)。染色质呈网状。核仁呈不规则的圆形位于染色质网中。卵质中嗜碱性及嗜焦宁性仍在增强, 滤泡细胞亦随卵母细胞增大而由柱形变成立方形, 并常可见双核现象。

营养细胞体积明显增大, 由分化期的 $6.8-12$ 微米增加到 $25-30$ 微米。细胞排列较稀疏, 界线分明。细胞核相应增大, 核膜亦十分明显。核内含有网状兼块状染色质, 亦常可看到营养细胞的双核现象, 细胞质的染色反应很强, 说明营养细胞正在大量地合成 RNA。

(5) 第 5 阶段: 卵母细胞仍为椭圆形, 185×270 微米。胚泡已移至卵质周缘并达到最大体积。染色质呈细网状, 孚尔根反应已完全不清楚。这在 Bielanska (1960) 的工作中亦有相似的报道。胚泡中核仁表现出积极的活动, 首先增大体积呈变形虫状或分枝状(图版 I:6), 随后核仁碎裂成许多核仁小体并向核膜移动(图版 I:7), 最后穿过核膜进入卵质各部分并最终溶解。卵质中的嗜碱性及嗜焦宁性达到最强阶段。这种现象 Aggarwal (1967) 在豆象 (*Callosobruchus analis*), Radecka (1962) 在蟋螽 (*Tachycines asymorus*) 中也报道过。

本阶段卵母细胞的营养索仍可看到(图版 II:8); 滤泡细胞仍为立方形, 但细胞之间已开始出现空位。这标志着卵母细胞的营养期即将结束。

3. 卵母细胞的卵黄形成期: 营养索消失, 卵母细胞开始形成卵黄, 并累积大量卵黄球。卵母细胞体积迅速增大直至发育为成熟卵。卵黄球形成期需要 2—3 天。

(6) 第 6 阶段: 卵母细胞不再与营养索相连, 说明不再由营养细胞提供营养。卵母细胞在第 6 阶段初期卵质均匀呈细颗粒状(图版 II:9)。滤泡细胞亦由立方形变成扁平形, 其间出现明显的细缝状空位(图版 II:10)。卵母细胞与滤泡交界处亦出现空位。其外缘开始有细小的卵黄球沉积, 越靠近空位沉积的卵黄球越多。卵质外缘的卵黄球由小逐渐增大, 并陆续向卵质中央移动, 外缘再重新出现小的卵黄球。在同一时期用汞化溴酚蓝染色的制片中, 苏木精染色出现的空位处均具嗜溴酚蓝性。在滤泡细胞的外缘亦出现一层嗜溴酚蓝的物质。卵质中沉积的卵黄球亦是嗜溴酚蓝的。这些现象说明卵黄物质的形成由卵巢外组织提供, 可能是由血淋巴中的卵黄先成体经过滤泡细胞之间的空位作为通路, 进入卵母细胞的表面, 然后经卵母细胞的胞饮作用吸入胞内形成卵黄球。

Elliott 和 Gillott (1976) 在迁徙蚱蜢 (*Melanoplus sanguinipes*) 的卵子发生中观察到卵黄形成的初期滤泡细胞之间同样出现空位, 也具嗜溴酚蓝性。用同位素标志血淋巴蛋白, 标志蛋白质是通过滤泡细胞间空位作为通道进入卵母细胞并形成卵黄球。

在卵黄球出现的初期, 胚泡中还有一些核仁碎块继续向卵质释放。这些核仁排出物对卵母细胞的物质合成起重要作用。

(7) 第 7 阶段: 卵质中已有大量嗜溴酚蓝的卵黄球, 卵母细胞体积达 $390-570$ 微米。后期胚泡开始退化, 染色质呈细网状, 核膜界线开始不清楚(图版 II:11)。卵质中嗜碱性及嗜焦宁性明显减弱。这种减少可能是由于卵母细胞体积的增大而使 RNA 散布在卵黄球及细胞质中所造成。但更可能是卵质中大量的 RNA 经过卵母细胞自身的加工利用, 也参与了卵黄球的形成 (Bielanska 1960)。

(8) 第 8 阶段: 卵质中已为大量的卵黄球所充满, 卵黄形成接近完成。卵母细胞已达 1000 微米以上, 其周缘出现了一层均匀的细胞质称为周质(图版 II:12)。周质与中央含有卵黄球的部分可以明显的区分开。胚泡已模糊不清, 核内染色质又表现为孚尔根正反应, 这表明卵黄形成结束。

滤泡细胞随着卵母细胞的体积增大变成很薄的扁平形。卵黄形成后滤泡细胞间空位消失, 并开始分泌卵壳。卵壳形成后, 滤泡细胞界线消失, 最后退化并与卵壳分离(图版 II:12)。

(9) 第 9 阶段: 卵已完成发育并被卵壳包围(图版 II:13), 呈长椭圆形, 长达 $1,200$

微米左右。卵巢管生长区后端的上皮细胞已形成上皮塞(图版 II:14),阻止卵进入卵管柄。当卵完成最后的发育时上皮塞破裂,成熟的卵经过卵管柄移入输卵管(图版 II:15)准备排出体外。

七星瓢虫卵巢管中可以同时有 4—6 个卵母细胞进行发育,并呈现梯度生长。但其中只有一个卵母细胞进入卵黄形成期。只有当生长区最后一个卵母细胞完成卵黄形成后,倒数第二个卵母细胞才进入卵黄形成期。

(三) 取食人工饲料的七星瓢虫卵子发生特点 七星瓢虫以鲜鸡蛋清配方进行人工饲养,能够生长发育并产卵,其卵子发生过程与取食天然食物者有以下几点区别:

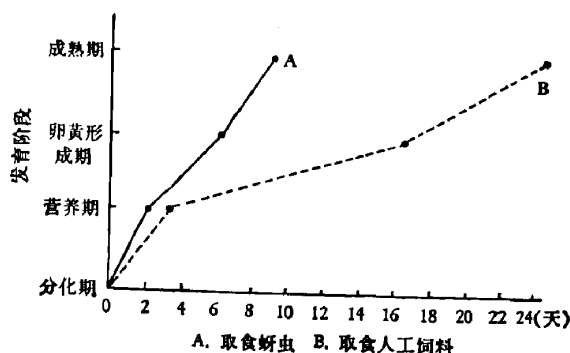


图2 取食不同食物的瓢虫卵母细胞发育进度的比较

A. 取食蚜虫 B. 取食人工饲料

1. 以人工饲料饲养的七星瓢虫,卵母细胞的发育速度明显缓慢(见图2)。其产卵前期及每次产卵的间隔期均较取食蚜虫者长。产卵率及平均产卵量也较低。

2. 在每一个卵管中,进入营养期的卵母细胞数量不同。取食人工饲料者卵管中仅有 2—4 个卵母细胞开始生长发育;取食蚜虫者通常有 5—6 个卵母细胞,最多时达 7 个卵母细胞开始发育。

3. 在正常情况下,卵母细胞在营养末期滤泡细胞开始出现空位。取食人工饲料的瓢虫中未见到明显的滤泡细胞空位,且滤泡细胞内出现一些空泡,表现出退化现象。在滤泡细胞之间出现一些小细胞,其作用可能是补充退化了的滤泡细胞。其次,卵质中卵黄球的分布不均匀,有时呈团块状聚集,这也是在正常食物的卵管中未曾观察到的现象。

参 考 文 献

- 中国科学院北京动物研究所昆虫生理研究室 1977 七星瓢虫成虫代饲料的研究。昆虫学报 20(3):243—52。
 王宗舜等 1977 七星瓢虫生殖的观察。昆虫学报 20(4):397—404。
 张宗炳等 1956 家蝇卵子发生的研究。昆虫学报 14(5):523—33。
 Aggarwal, S. K. 1967 Morphological and histochemical studies on oogenesis in *Callosobruchus analis* F. J. Morph 122: 19—33。
 Anderson, D. T. 1972 In development systems: Insects, ed. by S. G. Counce C. H. Waddington, Acad. Press. 1: 1—43。
 Bielanska, Z. 1960 Histochemical studies on Insect telotrophic ovaries. Zool. polon. 10: 130—63。
 Bonhag, P. F. 1955(a,b) Histochemical studies of the ovarian nurse tissue and ovary of the milkweed bug *Oncopeltus fasciatus*. J. Morph 96: 381—439, 97: 283—312。
 Bonhag, P. F. 1958 Ovarian structure and vitellogenesis in insect. Ann. Rev. Entomol. 3: 137—61。
 Elliott, R. H. & Gillott, C. 1976 Histological changes in the ovary in relation to yolk deposition, allatectomy and destruction of the median neurosecretory cell in *Melanoplus sanguinipes*. Can. J. Zool. 54: 185—92。
 Radecka, E. 1962 Cytological and cytochemical studies of oogenesis in *Tachycineta asynamorus* A. Zool. Polon, 12: 15—40。
 Ullmann, S. L. 1973 Oogenesis in *Tenebrio molitor*: Histological and autoradiographical observations on pupal and adult ovaries. J. Embryol. Exp. Morphol. 30: 179—217。

OOGENESIS IN *COCCINELLA SEPTEMPUNCTATA* L.

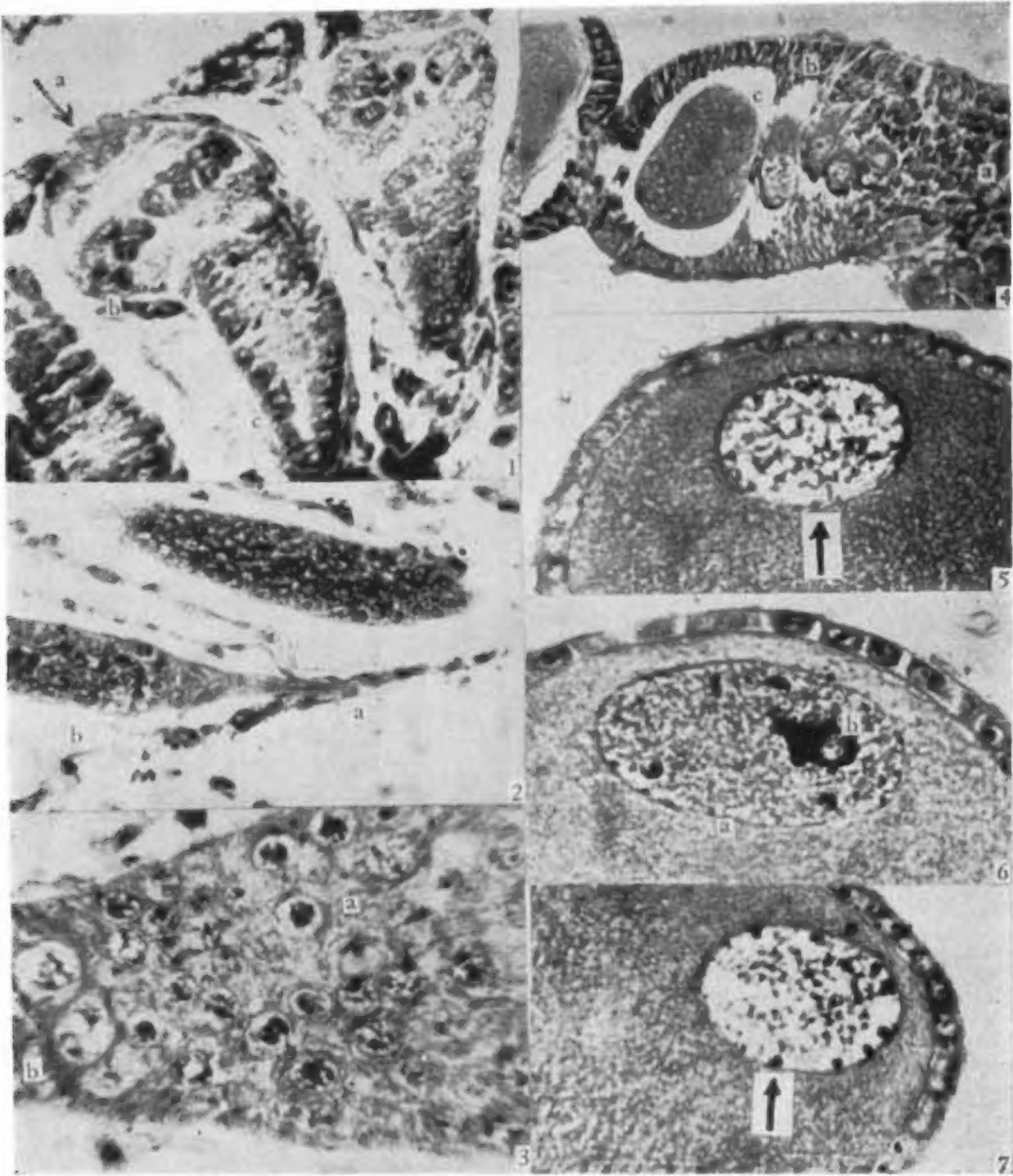
REN SHU-XIAN, LI YAN-TING, XU JUN

(Department of Biology, Beijing University)

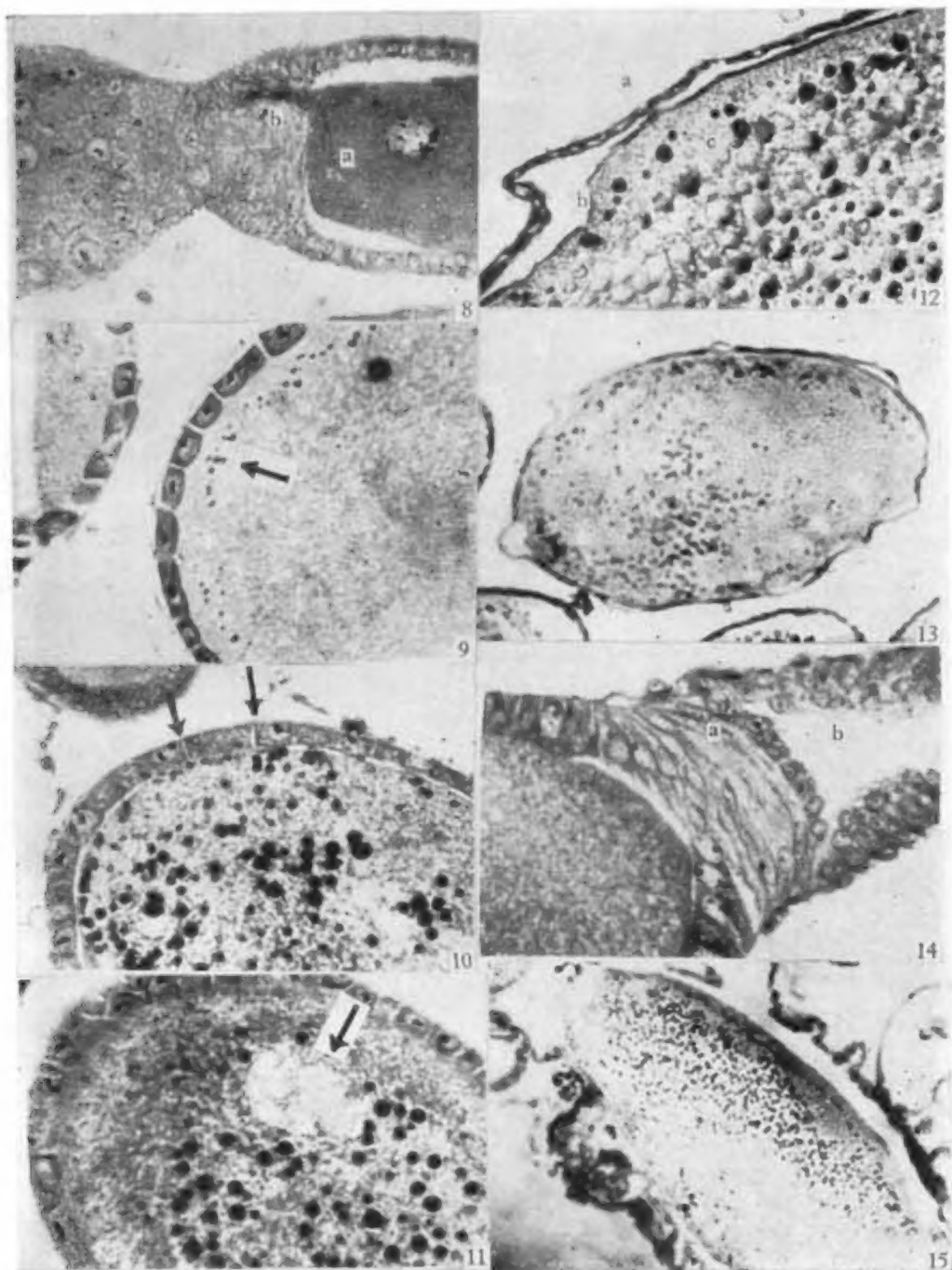
The present paper is a report on the oogenesis of *Coccinella septempunctata* L., the seven spotted ladybird beetle in natural condition and that fed with artificial diets.

Oogonia were found early in the larval stage; they grew into oocytes and nurse cells in the pupal stage. Oogenesis in the adult stage could be divided into 9 stages: 1. Oocytes were located in the germarium; first meiotic division occurred at this stage. 2. Oocytes grew in size and entered into the neck region; nutritive cord appeared. DNA showed a positive Feulgen reaction. 3. Egg chambers were formed in the vitellarium. The nucleus of the oocyte transformed into germinal vesicle. 4. The germinal vesicle of the oocyte moved into the periplasm, RNA in the ooplasm is rich, and follicular cells became cubic in shape. 5. Nucleolus increased in size and sent out branches; nucleolar bodies were released into the ooplasm. 6. Nutritive cord disappeared, follicular cells became flattened and open spaces appeared between them. Vitellogenesis began at this stage. 7. Ooplasm was gradually filled up with yolk granules, and the membrane of the germinal vesicle began to disappear. 8. Germinal vesicles has completely disappeared follicular cells began to secrete egg shells. 9. Oogenesis completed. The mature egg cell passed through the epidermal plug to enter into the oviduct.

The process of oogenesis in the seven-spotted ladybird beetle fed with artificial diets was comparatively slower, and developing oocytes were fewer in number. The follicular cells and yolk granules were abnormal.



1. 七星瓢虫 4 龄幼虫期的一个卵巢管。a. 端部 b. 中部 c. 基部。
2. 蛹期端丝的形成。a. 端丝 b. 卵巢管。
3. 成虫期部分卵巢管。a. 卵母细胞 b. 营养细胞。
4. 颈区放大。a. 前滤泡细胞 b. 第 2 阶段的卵母细胞 c. 第 3 阶段的卵母细胞。
5. 第 4 阶段卵母细胞局部放大。箭头示椭圆形胚泡。
6. 第 5 阶段卵母细胞局部放大。a. 胚胎 b. 核仁。
7. 第 5 阶段卵母细胞局部放大。箭头示碎裂的核仁小体向核膜及卵质移动。



8. 第5阶段卵母细胞局部放大。a. 卵母细胞 b. 营养索。
9. 第6阶段卵母细胞局部放大。箭头示卵质中开始形成卵黄球。
10. 第6阶段卵母细胞局部放大。箭头示滤泡间空位。
11. 第7阶段卵母细胞。示卵黄球大量沉积, 箭头示胚泡开始消失。
12. 第8阶段卵母细胞局部放大。a. 滤泡细胞分离解体 b. 卵壳形成 c. 周质。
13. 第9阶段卵母细胞。示发育成熟的卵。
14. 卵巢管后端局部放大。a. 上皮塞 b. 输卵管。
15. 位于输卵管中的成熟卵。